

DIE WIRKUNG PHOSPHATHALTIGER LÖSUNGEN AUF KARIES
IM TIEREXPERIMENT

vorgelegt von
Ute Winkler
—

1971
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Konservierenden Abteilung (Leiter: Prof. Dr. Dr. W. Ketterl)
der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kiefer -
krankheiten der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

DIE WIRKUNG PHOSPHATHALTIGER LÖSUNGEN AUF KARIES
IM TIEREXPERIMENT

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines

DOKTORS DER ZAHNHEILKUNDE

der Hohen Medizinischen Fakultät

der JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ

vorgelegt von

Ute Winkler

aus Troppau

1970



Dekan: Prof. Dr. P.Schölmerich
Referent: Prof. Dr. Dr. P.Riethe
Korreferent: Prof. Dr. Dr. W.Ketterl

Tag der mündlichen
Prüfung: 15. Januar 1971



gesamtherstellung
ditters bürodienst
mainz

INHALTSÜBERSICHT

Seite

I. Einleitung: Faktoren der Kariesentstehung: 1 - 9

- 1) Mikroorganismen der Mundhöhle 1
- 2) Kohlenhydrate der Nahrung 4
- 3) Plaquebildung 5
- 4) Aufgabe des Speichels 6
- 5) Kariesprophylaktische Möglichkeiten 7

II. Material: 10-14

- 1) Die zur Untersuchung angesetzten Lösungen und ihre chemische Zusammensetzung 10
- 2) Tiere:
 - a) Eignung der Ratten zu Versuchszwecken 11
 - b) Unterschiede zwischen Ratten- und Menschengebiß, bezüglich Morphologie, Schmelzzusammensetzung und Kariesausbreitung 12
14

III. Allgemeine Richtlinien für die Planung eines Tierversuches. 15-17

	Seite
IV. Bericht über Aufbau und Durchführung des Versuches:	18-20
1) Gruppeneinteilung der Tiere	18
2) Festlegen des Putzmodus	19
3) Kariogene Kost	20
V. Auswertung der Versuche:	21-23
1) Vorbereiten der Präparate	21
2) Färbemethode	22
3) Mikroskopische Auswertung	23
VI. Statistische Bearbeitung der Untersuchungsergebnisse:	24-42
1) Zahlenmäßige Erfassung der Kariesläsionen	24
a) Die vier Kariesläsionen	24
b) Mikroskopische Abbildungen angefärbter Schliffpräparate	25-26
c) Ergebnisse (Tab. 1-5)	28
2) Auswertung:	
a) Datenbeschreibung	34
b) Graphische Darstellung des Kariesbefalls der einzelnen Gruppen	35

	Seite
3) Statistische Vergleiche	36-42
a) Seitenvergleiche	36
b) Gruppenvergleiche	36
1. Kruskal-Wallis-Test	37
2. Wilcoxon-Tests	39
VII. Ergebnisse der statistischen Auswertung	43-45
VIII. Zusammenfassung	46
IX. Literaturangaben	47-50

99 % der Menschen in den zivilisierten Ländern sind von Karies befallen. Karies stellt demnach heute die am weitesten verbreitete Krankheit überhaupt dar.

Um den Demineralisationsprozeß in Gang zu bringen, müssen nach R. NAUJOKS (1968) vor allem drei Voraussetzungen gewährleistet sein:

- 1) Anwesenheit von Mikroorganismen
in der Mundhöhle
- 2) Kohlenhydrate in der Nahrung
- 3) Kontakt der Nahrung mit der
Zahnoberfläche

Wie wichtig die Mikroorganismen der Mundhöhle für das Kariesgeschehen sind, konnte an Hand verschiedener Versuche gezeigt werden:

E inwandfrei erwiesen ist, daß die Zähne vor ihrem Durchbruch, also vor ihrem Kontakt mit dem Speichel und der Mundflora keine Karies zeigen.

Auch im Tierversuch konnte dafür der Beweis erbracht werden: Keimfrei aufgewachsene Ratten bekamen trotz kariogener Kost keine Zahnläsionen.

Dagegen führen schon in Vitro-Versuche mit Bakterien zu einer Demineralisation der Zahnhartsubstanzen.

An bereits angegriffenen Zähnen erzielte man durch Zusetzen von Antibiotika eine Reduktion der Karies.

Unter dem Begriff " Mikroflora der Mundhöhle " werden sowohl die Speichelbakterien als auch die Mikroorganismen in den Plaques verstanden. Zu den Speichelbakterien rechnen hauptsächlich die anaeroben Streptokokken, die Neisserien und die Veillonellen. Diese Bakterien entstammen den verschiedenen Mundhöhlenarealen, wie Wangenschleimhaut, Zungenoberfläche und Zahnfleisch-taschen, sind aber an den verschiedenen Stellen in unterschiedlicher Konzentration anzutreffen. Bemerkenswert ist weiterhin, daß in den Plaques, welche unmittelbar auf den Zahnoberflächen haften, eine höhere Konzentration an Mikroorganismen herrscht, als im Speichel, welcher diesbezüglich nur ein Transportmedium für die Bakterien darstellt.

Worauf beruht nun die Fähigkeit der Bakterien, kariöse Läsionen zu verursachen ?

1882 konnte MILLER an in Vitro-Versuchen ermitteln, daß die Mundbakterien fähig sind, aus den Kohlenhydraten der Nahrung Säure zu bilden, welche zur Auflösung des Hydroxylapatites des Schmelzes und damit zur Lockerung der Schmelzprismen führt. In Anlehnung an K.G.KÖNIG ist somit die Säureproduktion der Mikroorganismen für die Entstehung kariöser Läsionen verantwortlich. Nach R.NAUJOKS (1968) ist die Säurebildung bei den Streptokokken am höchsten, nicht bei den Laktobazillen, welche früher irrtümlich als die

Hauptverursacher der Karies galten. Im Speichel sind diese nämlich nur in ganz geringer Anzahl vertreten. Das Verhältnis zu den übrigen dort vorhandenen Bakterien beträgt nur 1:10 000. Erstaunlich ist freilich, daß die Laktobazillen noch bei niedrigen pH-Werten (pH=4) Säure zu bilden vermögen, während die Streptokokken ihre Säurebildung bei pH-Werten von 5, die Neisserien schon bei pH=6 einstellen.

Ein weiterer Vorteil der Laktobazillen liegt darin, daß sie sich auf bereits kariösen Schmelzflächen stark vermehren und damit für eine andere Bakterienart, nämlich die Veillonellen, welche Laktate als Energiequelle benötigen, ideale Nährbodenbedingungen schaffen.

Eine initiale Karies kann jedoch niemals durch die Laktobazillen allein erzeugt werden, (STRALFORS.A.) (1955)

Die eigentlichen kariogenen Bakterienstämme wurden von ORLAND et al. (1955) und FITZGERALD et al. (1960) an ursprünglich keimfreien Laboratoriumsratten ermittelt. An diesen Tieren wurden Monokontaminationen mit einzelnen Bakterienstämmen vorgenommen.

An Hand dieser Versuche konnte bewiesen werden, daß die Enterokokken vom Streptokokkus faecalis-Typ (ORLAND) und mikroaerophile α -hämolytische Streptokokken (FITZGERALD), als Reinkulturen überimpft, kariöse Läsionen verursachen.

Dagegen gelang es nicht, durch Monokontaminationen mit einer Laktobazillenreinkultur eine Karies auszulösen.

Hauptverantwortlich für die Zahnzerstörungen sind demnach die vergrünenden Streptokokken, die schon in ihrer Anzahl die Laktobazillen um das Tausendfache übertreffen.

Die Kariogenizität bestimmter Streptokokkenstämme hat zwei Ursachen: 1. die schon erwähnte hohe Säurebildung

2. die vermehrte Synthese von intrazellulären Polysacchariden.

Vorraussetzung dafür ist eine kohlenhydrathaltige Nahrung, welche durch Gärung zu Säuren abgebaut wird. Streptokokken, welche Polysaccharide speichern und abbauen, vermögen nun den pH-Wert in den Belägen auf den Schmelzoberflächen über längere Zeit hin niedrig zu halten und somit eine Entkalkung zu begünstigen.

Von GIBBONS, R.J. (1962) konnte der Nachweis erbracht werden, daß kariesanfällige Personen in ihren Plaques fast doppelt so viel Polysaccharid-speichernde Streptokokken beherbergen als kariesresistente Personen.

Das Erreichen des für die Entkalkung des Schmelzes kritischen pH-Wertes durch Abbau dieser intrazellulären Polysaccharide spielt also eine entscheidende Rolle im Mechanismus der Kariesentstehung.

Neben den intrazellulären Polysacchariden wird heute den ebenfalls von Plaques-Streptokokken gebildeten extrazellulären Polysacchariden eine kariogene Bedeutung zugemessen (NAUJOKS,R,1968). Sie stellen ebenfalls eine Speicherform der Zucker dar, dienen aber außerdem noch als Bindemittel während der Plaque-Bildung.

Nicht jede Form der Kohlenhydrate ist kariogen. Hochmolekulare Stoffe, wie Stärke und Glykogen wirken praktisch nicht kariesfördernd, niedermolekulare, wie Rohrzucker und Fructose dagegen in hohem Maße.

(BRAMSTEDT, F. 1965)

Auch die Zeit der Aufnahme der Zucker spielt eine Rolle. Werden sie zwischen den Mahlzeiten genossen, also zu Zeiten mit niedriger Speichelsekretionsrate, so wirken sie besonders schädigend (VIPEHOLM-Versuche).

(GUSTAFSON, B.E. 1953)

Die kohlenhydrathaltige Kost ist aber nur dann in der Lage Karies zu erzeugen, wenn sie mit den Zahnoberflächen in längeren Kontakt kommt.

Durch ungenügende Zahnreinigung bleiben Reste der normal aufgenommenen Nahrung an den Retentionsstellen der Zähne (Fissuren, Grübchen, Interdentalräume) hängen und bilden festhaftende Beläge, welche mit der Zeit auch Mineralien einlagern und durch normale mundhygienische Maßnahmen nicht mehr zu entfernen sind. Diese Plaques werden auch als " Bakterienrasen " bezeichnet, da sie hauptsächlich aus lebenden und abgestorbenen Mikroorganismen in einer polysaccharid- und glyko-

proteinreichen Matrix bestehen, welche ein Produkt mikrobieller Vermehrung und Stoffwechselaktivität ist (RIETHE, P. 1969).

Zu diesen Bakterien, welche etwa 70 % des Plaquematerial ausmachen, gehören vorwiegend azidogene und säurefeste Stäbchen. Zahlenmäßig stehen dabei die Streptokokken, Neisserien, Veillonellen und Fadenbakterien an erster Stelle. Die Laktobazillen und die proteolytischen Bakterien sind nur in ganz geringer Zahl vorhanden.

Außer den Mikroorganismen befinden sich in den Belägen auch die Kohlenhydrate unserer Nahrung, die hier im Rahmen des normalen Bakterienstoffwechsels enzymatisch abgebaut werden. Bei ihrem Abbau entstehen durch Gärung die schon erwähnten Säuren, die den Schmelz demineralisieren und damit das Eindringen der Bakterien in die Tiefe ermöglichen.

Da die Plaques eine beträchtliche Dicke erreichen können und den Zähnen unmittelbar und fest aufliegen, ist nicht damit zu rechnen, daß bei der Entkalkung auch andere Säuren, die nicht in den Plaques gebildet werden, eine Rolle spielen.

Das Milieu kann ein weiterer kariesbegünstigender Faktor sein.

Im Speichel bewegt sich der pH-Wert zwischen 6,0 und 7,5, also in unmittelbarer Nähe des Neutral-

punktes und ist in diesem Rahmen sehr konstant. Der Speichel wird also nie so sauer, daß er den Schmelz entkalken kann.

In den Plaques dagegen ist der pH-Wert von der Dicke des Belages abhängig und kann bis zu einem Wert von 5,4 absinken. Dieses angesäuerte Milieu läßt schon eine sukzessive Entkalkung der Schmelzpartien zu.

Wie wichtig nun die Plaques für die Kariesätiologie sind, ist schon um die Jahrhundertwende von J.L.WILLIAMS, 1897 und G.V.BLACK, 1895, 1914 erkannt worden. Da eine plaquefreie, also eine weder von Nahrungsresten noch von Mikroorganismen bedeckte Zahnoberfläche niemals kariös wird, kann man in Anlehnung an K.G.KÖNIG (1966) folgende kariesprophylaktische Wege einschlagen:

- 1) Hemmung der Belagbildung durch Kauen harter Nahrung und Reinigen der Zähne nach dem Essen.
- 2) Einschränken der Zuckeraufnahme auf die Hauptmahlzeiten.

Zu den posteruptiven Einflüssen gehört, abgesehen von den Mikroorganismen und der Nahrung, auch der Speichel.

Je stärker die Spültätigkeit des Speichels ist, desto schneller verschwinden die Nahrungsreste

aus den Retentionsstellen und schon entstandene Säuren werden schneller abtransportiert. Eine wirkungsvolle Spültätigkeit ist also abhängig von hoher Speichelsekretion.

Auch die Konsistenz des Speichels spielt eine Rolle. So ist festgestellt worden, daß Personen mit einem geringen Kariesbefall eine große Menge dünnflüssigen Speichels haben. Die Bedeutung des Speichels im Kariesgeschehen konnte auch im Tierversuch manifestiert werden:

Speicheldrüsenextirpationen bei Ratten führten zu einer floriden Kariesentstehung, (Experimente von A. SCHWARTZ und J. H. SHAW, 1955).

- 3) Als dritte Möglichkeit einer Kariesprophylaxe ist daher das Erzeugen einer hohen Speichelmenge zu nennen.

Alle drei bisher genannten Möglichkeiten betreffen jedoch nur die post eruptive Phase, also die Zeit nach dem Zahndurchbruch. Dabei ist gerade die ausreichende Entwicklung der Struktur und der chemischen Zusammensetzung der Zahnhartsubstanzen wichtig, um den Angriff der Säuren abzufangen.

Demzufolge steht heute noch eine vierte Tendenz im Vordergrund:

- 4) Man versucht, in dem Zeitraum nach Ab =

schluß der Schmelzbildung, aber vor Durchbruch der Zähne, die Schmelzresistenz durch Einlagerung von Mineralien zu stärken.

H.P. PICKERILL beobachtete sogar Remineralisationsvorgänge im Schmelz bei einer Caries incipiens. Diese " Sklerotisierung " erfolgte seiner Meinung dadurch, daß die Zähne den Salivamineralien ausgesetzt sind.

Dies wurde auch durch die HEAD' schen Versuche bestätigt, worin künstlich entkalkter Schmelz durch langes Liegen im Speichel wieder hart wurde (KÖNIG, K.G. 1966).

Basierend auf diesen Erkenntnissen liegt der Gedanke nahe, die bei der Entkalkung verlorengegangenen Mineralien wieder zu ersetzen.

Da nun der Hydroxylapatit des Zahnschmelzes vorwiegend aus Kalziumphosphat besteht, wird in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen, eine experimentell erzeugte Karies bei jungen Ratten durch direktes Auftragen von phosphathaltigen Lösungen zu hemmen (MÜHLEMANN, H.R., 1961; KÖNIG, K.G. et al. 1966).

II. M A T E R I A L :

1) Die zur Untersuchung angesetzten Lösungen und ihre chemische Zusammensetzung:

1) Sörensenpuffer :

0,607 g KH_2PO_4 + 5,78 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

wurden mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

2) Phytinsäure : (Mesoinosit-hexaphosphorsäure)

5,8 g Phytinsäure, 70 %ig, wurde mit NaOH auf pH=6,0 eingestellt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

3) Natrium - β - Glycerophosphat :

11,3 g Natrium - β - glycerophosphat $5\text{H}_2\text{O}$ wurden mit HCl auf pH= 6,0 eingestellt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

4) Placebo

Die zur Untersuchung angesetzten Lösungen (1-3) beruhen alle auf Phosphatbasis. Um eine Vergleichsmöglichkeit der drei untereinander zu schaffen, mußte sowohl die Phosphatmenge als auch der pH-Wert vorher eingestellt werden. So mußte zum Beispiel die ursprünglich stark sauer reagierende Phytinsäure durch NaOH auf einen pH von 6,0 gesenkt werden. Die stark alkalische Na- β -glycerophosphatlösung wurde durch eine

Säure auf den gleichen pH-Wert gebracht. Sörensen-puffer hatte von vornherein den richtigen Wert. Die Menge an Phosphat (PO_4) betrug bei allen 3,5 %.

2) Tiermaterial:

Schon früh tauchte der Gedanke auf, Versuchstiere für die Kariesforschung zu verwenden. Dabei erhob sich die Frage, welche Tierart eine mit der menschlichen Zahnkaries vergleichbare Befallserscheinung erzielen ließ. Versuche an Anthropoiden, welche entwicklungsgeschichtlich dem Menschen am nächsten stehen und bezüglich ihres Gebisses und Ernährungsart die ähnlichsten Verhältnisse aufweisen, erfordern Jahre und sind zu kostspielig.

Meerschweinchen und Kaninchen kommen wegen ihrer kontinuierlich wachsenden Molaren für die Kariesforschung nicht in Frage.

Als geeignet haben sich Ratten, Goldhamster und Mäuse erwiesen. Die an ihnen experimentell erzeugten kariösen Läsionen zeigen in ihrem histologischen Bild grundsätzliche Übereinstimmung mit der menschlichen Karies, wie Versuche von ROSEBURY, T. und FOLEY, G. (1932) bewiesen haben. Etwa zwanzig Jahre später gelang es MC. CLURE, F. J. in einem Rattenversuch durch geeignete Diäten Läsionen an den gleichen Prädispositionsstellen zu erzeugen, an denen auch beim Menschen

Befall auftritt. Deshalb werden heute noch Ratten bevorzugt als Versuchstiere verwendet (s.a. ROZEIK, F. 1961)

Im folgenden soll nun kurz einiges über die Anatomie der Rattenzähne berichtet werden:

Die erwachsene Ratte hat im Gegensatz zum Menschen nur vier Zähne pro Kieferquadrant. Davon sind drei Molaren und einer der lange Schneidezahn der Nagetiere, welcher nach Abrasion durch Schmelzapposition wieder kontinuierlich zu wachsen beginnt und dadurch für unsere Versuche ungeeignet ist.

Eckzähne und Prämolaren fehlen im Rattengebiß.

Zwischen den Rattenmolaren und denen des menschlichen Gebisses gibt es einige morphologische Unterschiede:

- 1) Die Größe eines Rattenmolaren beträgt in mesio-distaler Richtung 2-3mm, also etwa $1/4$ des Menschenmolaren, in bucco-lingualer, bez.-palatinaler Richtung 1,8 mm.
- 2) Die Kronen der Rattenmolaren gliedern sich ebenfalls in mehrere Höcker, welche aber im Unterkiefer leicht nach mesial, im Oberkiefer nach distal geneigt sind.
- 3) Die Höcker werden durch tiefeinschneidende, sich nach occlusal spaltförmig öffnende Fissuren voneinander abgegrenzt, was für die Kariesausbreitung sehr von Bedeutung ist.

- 4) Die Fissuren verlaufen im Gegensatz zu denen des Menschen in transversaler Richtung, von buccal nach lingual, bez. palatinal und sind in der Regel bei den ersten beiden Molaren dreifach, beim dritten zweifach vertreten.
- 5) Die Zähne berühren sich in großen, rechteckigen Kontaktflächen und erscheinen dadurch dicht aneinandergedrängt. Hierin liegt auch der Grund für eine weniger häufig auftretende Approximalkaries im Ratengebiss.
- 6) Die Schmelzdicke beträgt je nach Lokalisation 0,03-0,15 mm, also etwa $1/10$ - $1/20$ derjenigen des Menschen.
- 7) Die Höckerkuppen der Rattenmolaren sind im Gegensatz zu den übrigen Kronenanteilen schmelzfrei. Sie erscheinen abgeflacht und leicht nach innen eingesunken.

Die Eignung der Ratte als Versuchstier der Kariesforschung liegt wohl auch darin, daß ihre Zahnschichten in ihrer chemischen Zusammensetzung denen des Menschen sehr ähnlich sind:

Zusammensetzung des Schmelzes: (HAGEMANN, E., 1960).

	<u>Ratte</u>	<u>Mensch</u>
phosphorsaurer Kalk	90 %	90 %
organische Substanzen	2 %	2-3 %
Wasser		4-5 %
kohlensaurer Kalk, Mg und Spurenelemente	6-8 %	2-4 %

Auch die Ausbreitung der Karies verläuft bei Mensch und Ratte sehr ähnlich (GRIEVES, C.J., 1922 a u. b):

- 1) Entkalkung der anorganischen Substanz entlang der Schmelzprismen
- 2) Bakterielle Invasion in Richtung Dentin
- 3) Unterminierende Ausbreitung des Prozesses entlang der Schmelzdentingrenze.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Karies hängt bei Mensch und Ratte von der Konsistenz und Zusammensetzung der Nahrung ab:

Saccharidreiche, fein pulverisierte Diäten, wie sie in diesem Versuch verwandt wurden, beschleunigen das Fortschreiten des Zerstörungsprozesses erheblich.

III. Allgemeine Richtlinien für die Planung eines Tierversuches:

Nach den Autoren K.G.KÖNIG, Th. Marthaler und H.R. MÜHLETMANN (1958) soll eine subjektive Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse von vornherein vermieden werden. Aus diesem Grunde müssen die Untersuchungen als "doppelter Blindversuch" durchgeführt werden: Sowohl dem Untersuchenden als auch dem Prüfer der mikroskopischen Präparate ist die Zusammensetzung der zu prüfenden Substanzen bis nach Versuchsabschluß zu verschweigen.

Außerdem ist darauf zu achten, daß für alle Tiere gleiche Versuchsbedingungen bestehen, um die biologische Streuung innerhalb der Versuchsgruppen möglichst klein zu halten (FELDE, W., 1964). Solche sind:

1) Auswahl von Tieren mit etwa gleicher Kariesanfälligkeit, wie es bei Inzuchtstämmen der Osborne-Mendel-Ratte der Fall ist.

2) Gleiche hygienische Wohnverhältnisse für alle Tiere, wie Drahtkäfige zur Vermeidung von Koprophagie, täglich frische Futternapfe und Wasserflaschen, gleichbleibende Raumtemperatur von $22 \pm 2^\circ\text{C}$ und relativer Luftfeuchtigkeit von 45 - 55 %, gleiche Lichtverhältnisse.

3) Wahl der günstigsten Versuchszeit. Die Versuchszeit muß den Zahndurchbruchzeiten der Ratte

te angepasst werden, um im histologischen Bild alle Stadien der Karies, vor allen Dingen aber auch die Initialkaries zu erfassen. Die Prophylaxeforschung hat nach H.P. PICKERILL (1913) nur dann einen Sinn, wenn die Karies an der Schmelzoberfläche aufgehalten werden kann. Dazu müssen aber Ort und Art der Initiation sicher erkannt werden, was bei längeren Versuchszeiten nicht mehr der Fall ist.

Die Durchbruchzeiten der Rattenmolaren:

<u>Zahn</u>	<u>Durchbruchszeit</u>
1.unterer Molar	15.-19.Tag nach der Geburt
1.oberer Molar	15.-19.Tag " " "
2.unterer Molar	16.-22.Tag " " "
2.oberer Molar	17.-22,Tag " " "
3.oberer Molar	31.-43.Tag " " "
3.unterer Molar	34.-45.Tag " " "

Wenn die Experimentierzeit, wie in diesem Fall auf 14 Tage festgesetzt ist und der Versuch am 22.ten Tag nach der Geburt der Ratten begonnen wird, kann der 3. untere Molar nicht zur Auswertung mit herangezogen werden.

4) Geringe und gleiche Tieranzahl in allen Käfigen. MC. CLURE, F. J. und FOLK, I. bewiesen in mehreren

Tierversuchen, daß die Käfige mit einem höheren Tierbesatz auch einen höheren Kariesbefall aufweisen.

5) Fütterung und Zähneputzen der Tiere muß jeden Tag zur gleichen Zeit (jeden Morgen) erfolgen.

6) Die Tiere müssen bei Versuchsantritt gleichaltrig sein, da sonst ältere Tiere durch die posteruptive Schmelzreifung einen härteren Schmelz aufweisen, als jüngere mit gerade durchbrechenden Zähnen.

IV. Bericht über Aufbau und Durchführung der Arbeit:

100 Osborne-Mendel-Ratten, beiderlei Geschlechts ⁺, wurden im Alter von 22 Tagen nach Zufall auf fünf Gruppen zu je zwanzig Tieren verteilt. Dabei wurde auf die Schaffung gleicher Blöcke Wert gelegt. So wurden Jungtiere ein und desselben Wurfes zufällig und gleichmäßig (COX, D.R. 1958) in allen Gruppen untergebracht und somit jeder Wurf allen fünf Verfahren unterzogen.

Jede der fünf Gruppen wurde durch eine Farbe gekennzeichnet, ebenso wie die Touchierungs-
lösungen. Um einen Vertausch der Tiere während der Untersuchung zu vermeiden, wurden diese vor und nach Ablauf des Experimentierens abgewogen und mit einem Hauptzeichen für die Gruppenzugehörigkeit gekennzeichnet. Außerdem erhielt jedes Tier ein Einzelmerkmal mit Pikrinsäure auf das Fell gepinselt. Gewichtszahlen und die Bezeichnung der Einzeltiere wurden sorgfältig notiert.

Das Zähneputzen der Tiere wurde auf eine modifizierte Art durchgeführt. Geputzt wurde nur in einer Richtung, und zwar von distal nach mesial, umgekehrt zum Fissurenverlauf der Ratte, was sich für das Entfernen von Nahrungsresten ungünstig auswirkt. Außerdem wurde das Putzen nur auf die Okklusalflächen der unteren Molaren beschränkt, da sie nach

⁺ Zwischen männlichen und weiblichen Tieren sind nach MARTHALER, TH., MÜHLEMAN, H. R., KÖNIG, K. G., 1957, in solchen kurzfristig geplanten Versuchen von 14 Tagen, die vor Eintritt der Geschlechtssteife der Tiere abgeschlossen sind, keine Differenzen im Kariesbefall festzustellen.

MARTHALER eine höhere Refallsquote aufweisen als die Oberkiefermolaren. Entsprechend wurden auch nur die unteren Molaren zur Auswertung herangezogen.

Putzmethode:

Zum Putzen mußte das Tier in Rückenlage auf den Tisch fixiert und sein Maul durch Einspreitzen einer kleinen Arterienklemme zwischen die oberen und unteren Nagezähne maximal geöffnet werden. Dann erst konnte der Wirkstoff mit Hilfe einer watteumwickelten Pinzette aufgetragen werden. Die unteren Kauflächen einer Kieferhälfte wurden 15 sec durch Hin- und Herführen der Pinzette behandelt, wobei ein kratzendes Putzgeräusch entstand. Bei jedem Tier wurde erneut in Lösung eingetaucht und der Lösungssüberschuss durch Wattepellets entfernt. Dadurch wurde erreicht, daß die Menge der applizierten Hemmstofflösung bei allen Tieren etwa gleich war. Vor jeder neuen Gruppe wurde die Pinzette in Aqua destillata von allen Resten der vorangegangenen Lösung befreit und mit frischer Watte umwickelt.

Um die Einwirkungszeit der Hemmstofflösung zu verlängern, wurden die Tiere erst zwei Stunden nach dem Putzen gefüttert. Dazu mußten wir täglich den Zeitpunkt der Applikation für die einzelnen Käfige notieren.

Kariogene Kost:

Während der 14-tägigen Versuchszeit wurden die kleinen Ratten mit der kariogenen Kost 580 nach STEPHAN, R.M. (1955) gefüttert, welche aus folgenden Nahrungsmitteln besteht:

- 1) 66 % Rohrzucker
- 2) 32 % Trockenmagermilchpulver
- 3) 2 % pulverisierte Rindertrockenleber

Wegen ihres niedrigen Eiweiß- und Mineralgehaltes ist diese Diät als Zuchtfutter ungeeignet. Eine längere Versuchsdauer würde daher bei den Tieren zu Gesundheitsschäden führen.

Die kariogene Wirkung dieses Futters ist in fein pulverisierter Form größer, da sich die kleinen Pulverteilchen schlechter aus den Fissuren entfernen lassen. Deshalb wurden die Futternäpfe der Tiere täglich erneuert und nicht aufgefressenes Futter vom Vortage von allen Klümpchen befreit.

Gegen den Durst erhielten die Tiere Aqua destillata, um eine mögliche Salzzufuhr bei Leitungswasser, welche eine Schmelzhärtung hervorrufen könnte, zu vermeiden.

V. Auswertung der Versuche:

Nach Ablauf der 14-tägigen Versuchszeit wurden die Tiere geopfert und abermals gewogen, um weitere Verwechslungen auszuschliessen, da die Farbmarkierungen teilweise schon verblasst waren.

Darauf befreiten wir die Unterkiefer der Ratten mit der Schere grob von den Weichteilen und halbieren sie zwischen den vorderen Nagezähnen in einen rechten und einen linken Kieferquadranten, welche zur Fixierung für die nächsten 24 Stunden in 10 %ige Formalinlösung gelegt wurden. Dadurch wurde auch das Ablösen der restlichen Weichteile erleichtert.

Vor dem Schleifen mußten die Kiefer gut abgespült werden.

Schleifvorgang:

Zur Herstellung der unentkalkten, sagittalen Serienschleife bedienten wir uns der Schleifmaschine von W. BÜTTNER, H. D. CREMER und M. HERRMANN (1956). Diese besteht im wesentlichen aus einer 90^o starken Phosphorbronzescheibe, die von Zeit zu Zeit mit einer Diamantpaste belegt werden muß und von einem feinem Wasserstrahl gekühlt wird. Ein Objektträger mit Klemmvorrichtung dient zur Fixierung der Kieferquadranten. Bisher wurde die Kieferbasis mit einer thermoplastischen Masse befestigt. Da diese jedoch während des Schleifens nachgab, konstruierten wir unter freundlicher Mithilfe der Kollegen des

physikalischen Institutes eine Klemme, in die der Kiefer fest eingespannt werden konnte.

Vor dem Schleifen mußte der Objektträger so ausgerichtet werden, daß die sagittale Achse der Zahnreihen eines Kieferquadranten mit der Schnittlinie der rotierenden Scheibe parallel war. Geschliffen wurde von buccal aus, in einem Abstand von 120-150 μ , was vorher durch eine Mikrometerschraube eingestellt werden konnte. Im Durchschnitt bekamen wir 4-6 Schliffe durch einen Quadranten. Beim Schleifen mußte darauf geachtet werden, daß die Trennscheibe nicht zu tief in den Kiefer geführt wurde, um ein vorzeitiges Ablösen der Schliffe zu verhüten. Nach dem Schleifen mußten die Kiefer einige Stunden an der Luft trocknen.

Färbung: Zur Färbung wurde ein Tropfen Schiff'scher Reagens nach GRAUMANN ⁺, in Verdünnung 1:4 verwandt.

⁺

Methode nach Graumann: (zit. nach LIPP, W. 1954)

- 1) 0,5 g Pararosanilin acridinfrei Stand. Bayer in 15 ml n-HCl ohne Erwärmen unter Schütteln vollständig lösen.
- 2) 0,5 g Kaliummetasulfit ($K_2S_2O_5$) in 85 ml Aqua destillata lösen und zusetzen.
- 3) Die rote Lösung mit 0,3 g Aktivkohle zwei Minuten lang schütteln und dann filtrieren.
Das Reagens ist sofort gebrauchsfertig.

Die Färbelösung wirkte etwa 10 Sekunden auf die Kiefer ein und wurde dann mit Aqua destillata abgespült.

Alle kariösen Läsionen werden durch diese Färbung rot bis violett gefärbt. Fleckige Anfärbung deutet auf eine gerade beginnende Karies hin.

Gesundes Dentin und gesunder ausgereifter Schmelz bleiben ungefärbt. Unreifer Schmelz erscheint ebenfalls rot.

Nach dem Färben wurden die getrockneten Kiefer mit einem Skalpell in die einzelnen Schliffe zerlegt und diese mit durchsichtigem Tesafilm auf einem gläsernem Objektträger in einer senkrechten Reihe übereinander von buccal (unten) nach lingual (oben) aufgeheftet, Fissur unter Fissur. Durch diese Schliffanordnung konnten die einzelnen Fissuren in ihrer gesamten bucco-lingualen Ausdehnung auf Karies untersucht werden.

Auswertung der Präparate:

Zur Auswertung wurde ein Aufsichtsmikroskop mit 25-facher Vergrößerung benutzt. Die Auswertung wurde von zwei Prüfern getrennt voneinander vorgenommen, um eine gegenseitige Beeinflussung zu vermeiden. Bei unterschiedlicher Beurteilung eines Präparates wurde eine Einigung erzielt.

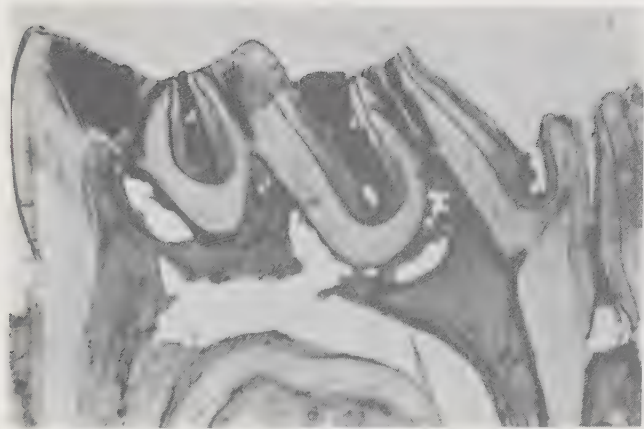
VI. Statistische Bearbeitung der Untersuchungsergebnisse:

1) Zahlenmäßige Erfassung der Kariesläsionen:

Zur Bestimmung des Läsionsgrades in den Zahnfissuren der Tiere mußten diese, wie bereits geschildert wurde, getötet und von ihren Kiefern Schliffe hergestellt werden. Diese wurden gefärbt und mikroskopisch untersucht. Dabei wurde der Läsionsgrad an den Schnittpunkten der Schlifflfläche mit den einzelnen Fissuren gemessen.

Die vier Grade der Kariesläsionen:

- Grad A : Farbreaktion auf den Schmelz beschränkt,
bei intakter Schmelzoberfläche und nicht
angefärbter Schmelz-Dentingrenze.
- Grad B₁ : Farbreaktion an der Schmelz-Dentingrenze.
- Grad B₂ : Farbreaktion an und jenseits der Schmelz=
Dentingrenze, halbmondförmige Ausbreitung
unter dem Schmelz.
- Grad C : Intensive Farbreaktion in der Dentintiefe,
Abhebung des Schmelzes, beginnende Kavi=
tation.



. 1:

Sagittalschnitt durch den ersten
unteren Molaren.

Man sieht in der ersten und zweiten
Fissur Nahrungseinschlüsse, jedoch
keine kariösen Veränderungen.

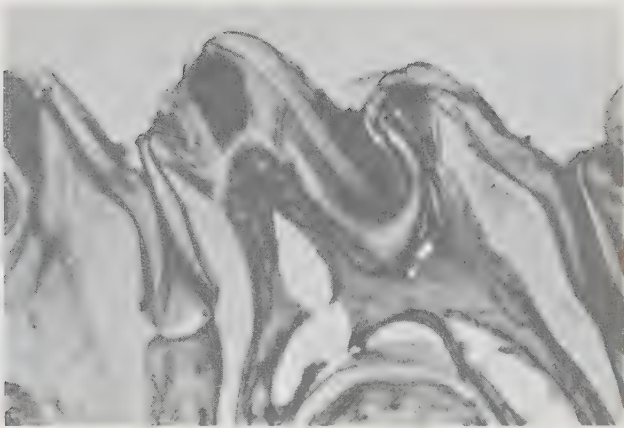


Abb. 2:

Sagittalschnitt durch den zweiten unteren Molaren.

Deutlich sichtbar Nahrungseinschlüsse in der zweiten Fissur und die initiale Dentinläsion in Form eines Halbmondes entlang der Schmelz-Dentin-Grenze.

Zur Gewinnung eines geeigneten Kriteriums der Läsionsstärke wurden auf den durchgeführten Zahnschliffen Bewertungen der Ausprägung der Karies vorgenommen. Dabei wurde der Läsionsschwere nach folgende Skalierung getroffen:

$$A = 1$$

$$B_1 = 2$$

$$B_2 = 3$$

$$C = 4$$

Für die auf jeder Kieferseite untersuchten zwei Molaren wurden im Bereich der Fissuren die Kariesgrade festgestellt, durch die entsprechende Ziffer ersetzt und zu einem Index (Läsionsindex) addiert.

Bei einer hohen Summe handelt es sich dabei um eine stark ausgeprägte Karies, bei einer niedrigen um eine geringere Läsion.

Dabei konnten nur zehn Fissuren berücksichtigt werden, und zwar je drei beim ersten Molaren und je zwei beim zweiten, da dessen mediale Fissur oft ungenügend ausgebildet ist. (Abb.1 und Abb.2)

Es wurde nun für jede Gruppe eine Tabelle angefertigt, in der die vorgekommenenen Kariesgrade und die Läsionsindices der einzelnen Tiere eingetragen sind.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1-5 aufgezeichnet.

Tabelle 1

Gruppe I : Sörensenpuffer

Kiefer links							Kiefer rechts						
1.Molar				2.Molar			1.Molar			2.Molar		S	
Tier	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{li}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{re}	li+ re
1	2	3	1	3	1	10	3	3	1	3	1	11	21
2	2	2	-	3	1	8	2	3	2	2	-	9	17
3	2	2	2	2	2	10	2	3	1	3	-	9	19
4	2	2	2	3	-	9	3	3	1	3	-	10	19
5	2	3	-	3	3	11	1	3	1	3	2	10	21
6	2	3	1	3	2	11	2	3	2	3	2	12	23
7	1	3	1	3	3	11	2	3	1	3	-	9	20
8	1	3	1	3	1	9	2	3	2	3	1	11	20
9	2	2	1	2	2	9	2	3	1	3	1	10	19
10	-	3	1	2	2	8	2	2	2	2	1	9	17
11	2	2	1	3	1	9	2	2	1	3	1	9	18
12	3	3	1	3	2	12	2	2	1	3	1	9	21
13	2	2	2	3	1	10	2	2	2	2	1	9	19
14	2	3	2	3	1	11	3	3	2	3	1	12	23
15	3	3	1	3	-	10	2	3	1	3	1	10	20
16	3	3	1	3	1	11	2	3	1	3	2	11	22
17	3	3	1	3	1	11	2	2	1	3	1	9	20
18	3	3	1	3	1	11	2	2	2	3	1	10	21
19	2	3	1	3	1	10	2	3	2	3	2	12	22
20	2	2	1	3	1	9	2	3	1	3	-	9	18
41 53 22 57 27 200							42 54 28			57 19 200		400	

F₁, F₂, F₃ bedeutet die 1., 2., 3. Fissur eines Molaren
 S ist die jeweilige Summe der Kariesläsionen bei
 einer Kieferseite.

Tabelle 2

Gruppe II : Na- β -Glycerophosphat

Kiefer links							Kiefer rechts						
1.Molar				2.Molar			1.Molar			2.Molar			S
Tier	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{li}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{re}	li ₊ re
1	2	3	-	2	1	8	2	3	1	3	-	9	17
2	2	2	1	3	-	8	3	2	-	2	1	8	16
3	2	2	1	2	-	7	2	2	1	2	2	9	16
4	2	3	-	2	-	7	2	2	-	2	2	8	15
5	1	2	2	2	2	9	2	2	-	2	2	8	17
6	2	2	-	2	-	6	2	2	-	2	1	7	13
7	2	2	-	3	-	7	2	2	1	2	-	7	14
8	2	2	-	2	-	6	1	1	1	2	1	6	12
9	2	2	2	2	2	10	1	2	-	2	2	7	17
10	1	2	-	3	-	6	1	2	-	2	-	5	11
11	1	2	-	2	-	5	2	2	-	2	-	6	11
12	1	2	2	3	-	8	2	2	-	2	-	6	14
13	2	2	1	2	-	7	2	2	1	2	1	8	15
14	1	3	2	3	2	11	1	3	1	3	2	10	21
15	1	2	1	2	-	6	2	2	1	3	-	8	14
16	2	2	1	2	-	7	2	3	1	3	1	10	17
17	1	2	1	2	1	7	1	2	1	2	1	7	14
18	3	3	1	2	2	11	3	3	1	3	2	12	23
19	3	3	1	3	2	12	3	3	1	3	2	12	24
20	1	2	2	2	2	9	1	2	1	2	2	8	17

34 45 18 47 14 157 37 44 12 43 22 168 318

Tabelle 3

Gruppe III : Phytinsäure

Kiefer links						Kiefer rechts							
1.Molar				2.Molar			1.Molar			2.Molar		S li re ⁺	
Tier	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{li}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂		S _{re}
1	1	2	-	2	-	5	2	2	1	3	1	9	14
2	1	2	1	3	2	9	1	3	1	2	-	7	16
3	2	2	1	2	1	8	2	2	-	2	-	6	14
4	3	3	1	3	-	10	2	2	2	3	-	8	18
5	1	3	1	3	1	9	2	3	1	2	2	10	19
6	2	2	-	2	-	6	2	2	1	3	1	9	15
7	1	2	1	2	2	8	2	2	1	3	2	10	18
8	1	3	1	3	1	9	2	2	1	2	1	8	17
9	3	3	2	2	1	11	3	3	1	3	1	11	22
10	2	3	1	3	1	10	3	3	1	3	1	11	21
11	2	3	2	2	2	11	3	3	1	2	1	10	21
12	1	2	-	3	1	7	2	2	-	2	-	6	13
13	2	3	-	3	-	8	2	3	1	2	2	10	18
14	3	3	1	3	1	11	3	3	-	3	-	9	20
15	2	2	-	3	-	7	3	3	1	3	-	10	17
16	-	2	1	2	2	7	2	2	-	2	-	6	13
17	3	2	-	2	-	8	2	2	2	2	2	10	18
18	1	2	-	2	2	7	1	2	2	2	-	7	14
19	3	3	-	3	2	11	1	2	1	2	2	8	19
20	2	2	-	2	2	8	2	2	-	2	2	8	16

36 49 13 50 22 170 42 48 17 48 18 173 343

Tabelle 4

Gruppe IV : Placebo

Kiefer links							Kiefer rechts					S li + re	
1.Molar				2.Molar			1.Molar			2.Molar			
Tier	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	S _{li}	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂		S _{re}
1	2	3	-	3	-	8	1	2	1	3	1	8	16
2	3	3	-	3	1	10	1	2	1	2	1	7	17
3	2	3	1	3	1	10	3	3	1	3	1	11	21
4	2	3	2	3	2	12	1	2	1	3	2	9	21
5	2	2	-	3	-	7	1	2	2	2	2	9	16
6	2	3	-	3	1	9	2	3	1	3	2	11	20
7	3	3	-	3	-	9	2	2	-	2	-	6	15
8	3	3	2	3	1	12	3	3	3	1	-	10	22
9	2	3	-	3	1	9	3	3	1	3	1	11	20
10	2	3	1	3	1	10	3	3	1	2	1	10	20
11	2	2	2	2	1	9	1	2	1	3	1	8	17
12	2	2	2	2	1	9	2	3	-	2	-	7	16
13	2	2	1	2	-	7	2	3	-	2	-	7	14
14	2	2	1	2	2	9	1	3	2	3	-	9	18
15	2	2	1	2	-	7	2	2	-	2	-	6	13
16	2	3	1	3	2	11	3	3	1	2	2	11	22
17	2	2	2	3	1	10	2	3	-	3	1	9	19
18	3	3	1	3	2	12	2	2	2	2	2	10	22
19	2	3	-	3	1	9	2	3	1	3	1	10	19
20	3	3	1	3	1	11	2	3	-	3	-	8	19
45 53 18 55 19 190 39 52 19 49 18 177 367													

Vergleicht man die Summen der Läsionsindices aller fünf Behandlungsgruppen miteinander, so scheint ein Unterschied in der Läsion zu bestehen.

Gruppe	Summe der Läsionsindices
I (Sörensenpuffer)	400
II (Na- β -Glycerophosphat)	318
III (Phytinsäure)	343
IV (Placebo)	367
V (Kontrolle)	409

2) Auswertung

a) Datenbeschreibung:

Aus der Summe der zwanzig Läsionsindices jeder Gruppe lassen sich die Mittelwerte der Läsionsschwere beider Kiefer eines Tieres errechnen.

Zusätzlich zu diesen Mittelwerten wurde die Streuung oder Standardabweichung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) berechnet. Dazu wurde folgende Formel benutzt:

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}{n(n-1)}}$$

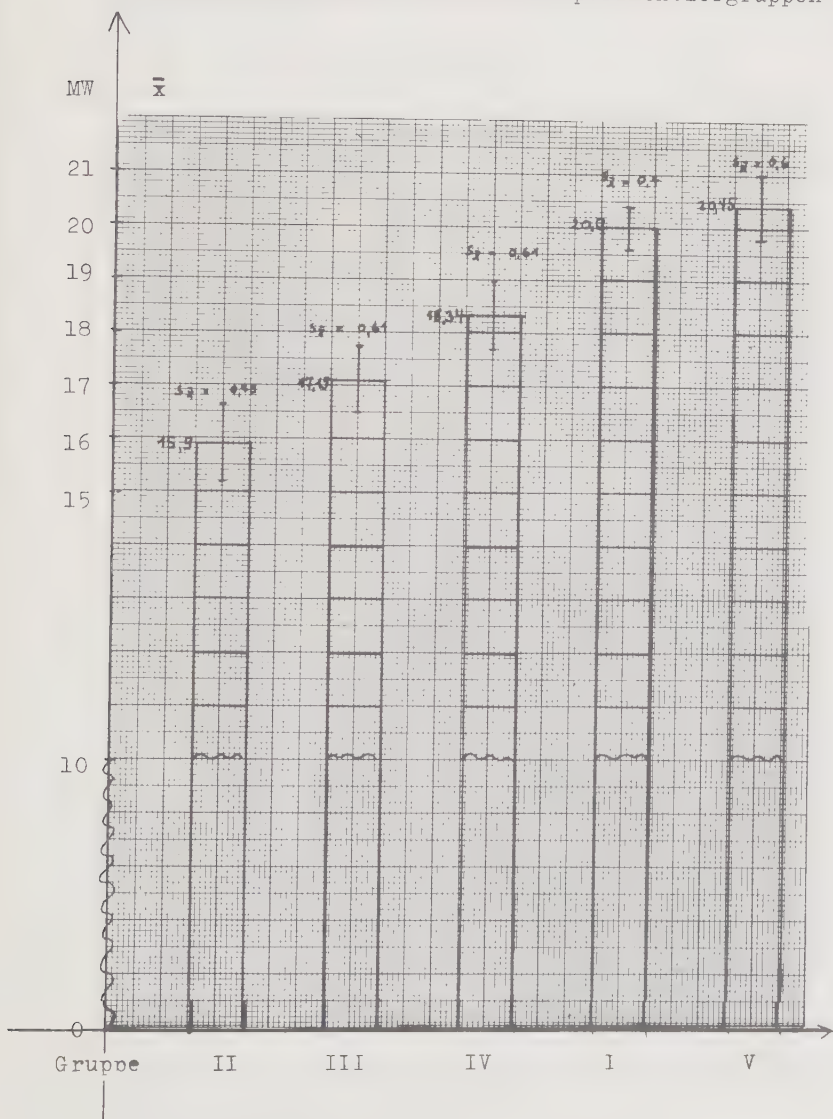
Gruppe	$\sum$ der Läsionsin- dices	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
I	400	20	0,40
II	318	15,9	0,75
III	343	17,15	0,61
IV	367	18,38	0,61
V	409	20,45	0,60

(n = Anzahl der Tiere = 20

$\bar{x}$ = Mittelwert

x_i = Einzelwert)

b) Graphische Darstellung
des Kariesbefalls der einzelnen Experimentiergruppen



(MW = Mittelwerte)

3) Statistische Vergleiche:

a) Seitenvergleiche: Beim Betrachten der Tabelle 1 fällt auf, daß sowohl die Läsionssumme beider Kieferseiten eines Tieres als auch die Summe der Läsionen aller zwanzig Tiere in den verschiedenen Fissuren beider Kiefer annähernd gleich ist. Die Übereinstimmung ist so groß, daß sich ein Test erübrigt.

b) Gruppenvergleiche:

Aus einem größeren Tierbestand wurden 100 junge Ratten ausgewählt und je zwanzig davon zufällig folgenden Behandlungen zugeordnet.

In der nächsten Tabelle (Nr.6) sind die Ergebnisse bei den fünf Benandlungsgruppen aufgezeichnet. Zu einer ersten Prüfung auf Unterschiede zwischen den Ergebnissen in den einzelnen Gruppen wurde zunächst eine Gesamtauswertung mittels des K r u s k a l - W a l l i s - Test vorgenommen. Dabei handelt es sich um einen nicht parametrischen Test, d.h. es gehen keine Voraussetzungen über die Art der Verteilung in die Testgrundlagen ein.

Die Werte aller Gruppen werden nach zunehmender Läsionsschwere rangiert, so daß der kleinste Läsionsindex die Rangzahl 1 erhält, die größte bei insgesamt 100 Tieren die Zahl 100.

Bei sogenannten verbundenen Werten zwischen den Gruppen (ties) werden Mittelwerte gebildet. Man berechnet dann die Summen innerhalb jeder Gruppe (R_i).

Tabelle 6

K r u s k a l - W a l l i s - T e s t

Behandlungsgruppen:

	I		II		III		IV		V	
	L _i	R ₁	L _i	R ₂	L _i	R ₃	L _i	R ₄	L _i	R ₅
1	17	33	11	1,5	13	5,5	13	5,5	17	33
2	17	33	11	1,5	13	5,5	14	11,5	17	33
3	18	44,5	12	3	14	11,5	15	17,5	18	44,5
4	18	44,5	13	5,5	14	11,5	16	23	18	44,5
5	19	55,5	14	11,5	14	11,5	16	23	18	44,5
6	19	55,5	14	11,5	15	17,5	16	23	19	55,5
7	19	55,5	14	11,5	16	23	17	33	19	55,5
8	19	55,5	14	11,5	16	23	17	33	19	55,5
9	20	67	15	17,5	17	33	18	44,5	20	67
10	20	67	15	17,5	17	33	19	55,5	20	67
11	20	67	16	23	18	44,5	19	55,5	20	67
12	20	67	16	23	18	44,5	19	55,5	21	79,5
13	21	79,5	17	33	18	44,5	20	67	21	79,5
14	21	79,5	17	33	18	44,5	20	67	21	79,5
15	21	79,5	17	33	19	55,5	20	67	21	79,5
16	21	79,5	17	33	19	55,5	21	79,5	21	79,5
17	22	89,5	17	33	20	67	21	79,5	23	95
18	22	89,5	21	79,5	21	79,5	22	89,5	23	95
19	23	95	23	95	21	79,5	22	89,5	26	99
20	23	95	24	98	22	89,5	22	89,5	27	100
	1332		576		779		1009		1353,5	
	R _{·1}		R _{·2}		R _{·3}		R _{·4}		R _{·5}	

L_i = Läsionsindex

Als Prüfwert wird berechnet:

$$T = \frac{12 \cdot k}{n^2 (n + 1)} \cdot \sum_{i=1}^k R_i^2 - 3 (n + 1)$$

k = Zahl der Behandlungsgruppen (k = 5)

n = Zahl der Tiere insgesamt (n = 100)

Die Prüfgröße T ist χ^2 -verteilt mit k -1 Freiheitsgraden. Nach den vorliegenden Ergebnissen erhält man:

$$T = \frac{12 \cdot 5}{10\,000 (101)} \cdot 5\,563\,663,5 - 303$$

$$T = 330,515 - 303$$

$$T = 27,5$$

In der Tafel findet man:

$$\chi^2 (FG = 4; P = 1\%) = 13,3$$

Der berechnete Wert T übersteigt den Tafelwert.
Das Ergebnis ist also statistisch signifikant, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $P \leq 1\%$.

Da der Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen von Interesse ist, wurden die Gruppen paarweise mittels des W i l c o x o n - Testes verglichen. Dabei handelt es sich um das gleiche Prinzip wie im vorangegangenen Test. Die Läsionsindices werden wiederum der Größe nach geordnet. Da es sich um insgesamt 40 Tiere handelt (jede Gruppe zu 20 Tieren) so wird auch 40 die höchste Rangzahl sein.

Als Beispiel diene der Vergleich zwischen Gruppe I und III, Tabelle 7.

Rangtest nach " Wilcoxon "

Tabelle 7

Behandlungsgruppen:

Tier	III		I	
	Läsions index	R ₃	Läsions index	R ₁
1	13	1,5	17	10,5
2	13	1,5	17	10,5
3	14	4	18	15,5
4	14	4	18	15,5
5	14	4	19	21,5
6	15	6	19	21,5
7	16	7,5	19	21,5
8	16	7,5	19	21,5
9	17	10,5	20	27
10	17	10,5	20	27
11	18	15,5	20	27
12	18	15,5	20	27
13	18	15,5	21	32,5
14	18	15,5	21	32,5
15	19	21,5	21	32,5
16	19	21,5	21	32,5
17	20	27	22	37
18	21	32,5	22	37
19	21	32,5	23	39,5
20	22	37	23	39,5

R.₃=291

R.₁=529

An Hand der durch den Wilcoxon-Test erlangten Ergebnisse kann man prüfen, welche Gruppenpaare differieren. Zur Bewertung der beim Test erhaltenen Rangsummen wurden die Geigy-Tabellen (3.126, 6. Auflage 1960) benutzt.

Bei vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten finden sich in der Tabelle die Grenzwerte bei Vergleich mit 20 Werten in jeder Gruppe. Bei 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit betragen die Grenzwerte 315, bez. 505. Sind diese Grenzen überschritten, so sprechen wir von einem signifikantem Ergebnis.

Bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit betragen sie 337 bzw. 483. Sind letztere Grenzen überschritten, so sprechen wir von einem auffälligen Ergebnis.

Die Ergebnisse dieser paarweisen Vergleiche mittels des Wilcoxon-Test sind in der nächsten Tabelle (Tabelle 8) aufgeführt.

Tabelle 8 : Ergebnisse der Wilcoxon - Tests

	I	II	III	IV	V
I	.	+	+	-	-
II		.	-	(+)	+
III			.	-	+
IV				.	-
V					.

+ statistisch gesichert ($P \leq 1 \%$)

- statistisch nicht gesichert ($P \geq 5 \%$)

(+) statistisch auffällig ($1 \% \leq P \leq 5 \%$)

Diese Ergebnisse sprechen grob gesehen für folgen=
de Klassifizierung der Behandlungsarten nach
steigender Wirksamkeit:

1.) Kontrolle, Gruppe I, Gruppe IV

2.) Gruppe III

3.) Gruppe II

Die Ergebnisse der paarweisen Gruppenvergleiche
spiegeln die Reihenfolge der Wirksamkeiten, wie
sie sich aus der graphischen Darstellung ergibt.

VII. ERGEBNISSE :

Zu untersuchen war die karieshemmende Wirkung folgender Substanzen:

- | | |
|---------------------------------|------------|
| 1) Sörensenpuffer | Gruppe I |
| 2) Na- β -Glycerophosphat | Gruppe II |
| 3) Phytinsäure | Gruppe III |
| 4) Placebo | Gruppe IV |
| | Gruppe V |

diente als Kontrollgruppe und wurde nicht geputzt.

Die Kariesläsionen der einzelnen Tiere wurden zahlenmäßig erfaßt. Pro Tier wurden 10 Daten ,entsprechend den ausgewerteten Fissuren des 1. und 2.Molaren jeder Unterkieferhälfte , vermerkt.

Zur Übersicht fertigte ich von jeder Gruppe eine Tabelle (S.28-32) an, worin die Läsionsgrade aller zwanzig Tiere eingetragen sind.

Am rechten Rand dieser Tafeln wurden die Läsionsgrade des rechten und linken Kiefers eines jeden Tieres zum sogenannten Läsionsindex addiert.

Vergleicht man die Summen der Läsionsindices aller fünf Gruppen miteinander, so fällt schon jetzt ein Unterschied im Kariesbefall auf.

Anschließend wurde eine mathematisch-statistische Auswertung durchgeführt.

Aus der Errechnung des Mittelwertes (S34), der Streuung und der graphischen Darstellung treten die Unterschiede in der Läsion zwischen den fünf Tiergruppen deutlicher hervor.

Die nachfolgenden Gruppenvergleiche, wie Kruskal - Wallis - und Wilcoxon-Test ergaben eine noch genauere Differenzierung der Gruppen untereinander.

Mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Testes wurden die Ergebnisse bei den fünf Gruppen auf Unterschiede geprüft und daraus der Prüfwert errechnet.

Das Ergebnis $T = 27,5$ übersteigt den Tabellenwert von 13,3 und ist deshalb bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % statistisch signifikant.

Weiterhin wurden die Gruppen mittels des Wilcoxon-Testes paarweise verglichen und an Hand der so gefundenen Ergebnisse geprüft, welche Gruppenpaare differieren.

Zur Bewertung, ob es sich um signifikante ($P \leq 1\%$), statistisch auffällige ($1\% \leq P \leq 5\%$) oder statistisch nicht gesicherte Ergebnisse handelte, wurden die Geigy-Tabellen (1960) verwendet.

Die Ergebnisse aus dem Wilcoxon-Test wurden in Tabelle 8 aufgeführt. Die Reihenfolge der Gruppen bezüglich ihrer Wirksamkeit entspricht der Darstellung im Schaubild (S.35).

Den besten Hemmerfolg erzielten die Gruppen II (Na- β -Glycerophosphat) und III (Phytinsäure).

Der Sörensenpuffer (Gruppe I) hatte so gut wie keine Hemmwirkung.

Wesentlich besser schnitt die mit der Placebo = Lösung geputzte Gruppe ab, obwohl sie keinen Wirkstoff enthielt. Trotzdem fand sich auch hier kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe, welche die höchste Befallsquote aufwies.

VIII. Z U S A M M E N F A S S U N G

Zunächst wird ein Überblick über die Hauptfaktoren bei der Kariesentstehung gegeben und daraus resultierende kariesprophylaktische Maßnahmen aufgezeigt.

Die karieshemmende Wirkung von drei phosphathaltigen Lösungen wird im Vergleich zu einer placebo = haltigen Lösung ohne Wirkstoff und einer nicht geputzten Kontrollgruppe im kurzfristigen Tierversuch geprüft.

Über die Besonderheiten der Versuchstiere, die Herstellung der Schliffe und die mikroskopische Untersuchung wird ausführlich berichtet.

Anschließend folgt eine mathematisch-statistische Auswertung. Daraus ist zu ersehen, daß es in den Versuchen zu deutlichen Unterschieden im Kariesbefall zwischen den fünf Tiergruppen gekommen ist.

Das Versuchsergebnis läßt weiterhin erkennen, daß man posteruptiv und auch nach Durchbruch der Zähne durch äußerliche Anwendung von phosphathaltigen Lösungen eine gewisse Schmelzhärtung und damit eine Hemmung der Kariesbildung erzielen kann.

L I T E R A T U R A N G A B E N

- BLACK, G.V.: An investigation of the physical characters of the human teeth in relation to their diseases, and to practical dental operations, together with the physical characters of filling-materials. Dent.Cosmos, 37, 353 (1895)
- BLACK, G.V.: Konservierende Zahnheilkunde, Bd. 1, Hermann Meußner, Berlin 1914
- BRAMSTEDT, F.: Neuere Untersuchungen über die Bedeutung der Kohlenhydrate in der Kariesätiologie; Dtsch.zahnärztl. Z. 20, 505 (1965)
- BÜTTNER, J., CREMER, H.D. und HERRMANN, M.: Ernährungsfaktoren bei Zahn- und Knochenbildung. V. Kariesdiagnostik an Zahnschliffen bei der Ratte. Dtsch.zahnärztl.Z. 11, 984 (1956)
- COX, D.R.: Planning of experiments. Wiley New York, Chapman and Hall, London 1958
- FITZGERALD, R.J., JORDAN, H.V. and STANLEY, H.R.: Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat. J.dent.Res. 39, 923 (1960)
- GEIGY: DOCUMENTA GEIGY, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Aufl., Basel 1960, S. 124 ff
- GIBBONS, R.J. und SOCRANSKY, J.S. (1962): zit.n.NAUJOKS, R. (1968)
- GRAUMANN, W. (1953): zit. n. LIPP, W. (1954)
- GRIEVES, C.J.: The effect of defective diets on the teeth. The relation of calcium, phosphorus and organic factors to caries-like and attaching tissue defects. J.Amer.med.Ass. 79, 1567 (1922a)

- GRIEVES, G.J.: A preliminary study of gross maxillary and dental defects in three hundred rats on defective and deficient diets. J.Amer.dent.Ass. 9, 467 (1922 b)
- GUSTAFSON, B.E.: Tandkaries och Kohlhydrater. Vipeholms undersökningarna 1947, Lund, 1953
- HAGEMANN, E.: Ratte und Maus. Versuchstiere in der Forschung. Berlin 1960
- KÖNIG, K.G.: Möglichkeiten der Kariesprophylaxe beim Menschen und ihre Untersuchung im kurzfristigen Rattenexperiment. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart 1966
- KÖNIG, K.G., MARTHALER, Th.M. und MÜHLEMAN, H.R.: Methodik der kurzfristig erzeugten Rattenkaries. Dtsch.zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 29, 99 (1958)
- KÖNIG, K.G., SCHAIT, W. und MÜHLEMAN, H.R.: Die Wirkungen lokalapplizierter Phosphat- und Fluoridlösungen auf den Kariesbefall und die Löslichkeit der Molarenoberfläche bei der Osborne-Mendel-Ratte. Helv.odont.Acta 10, 19 (1966)
- LIPP, W.: Histochemische Methoden. Oldenburg und Graz, 1954
- MARTHALER, Th.M., MÜHLEMAN, H.R. und KÖNIG, K.G.: Zur Planung und Auswertung tierexperimenteller Kariesstudien. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 67, 755 (1957)
- MC CLURE, F.J.: Dental caries in rats fed a diet containing processed cereal foods and a low content of refined sugar; Science 116, 229 (1952)
- MC CLURE, F.J. and FOLK, J.E.: Experimental variables affecting caries production in rats fed diets containing processed foods. L. dent. Res. 34, 358 (1955)

- MILLER, W.D.: Der Einfluß der Mikroorganismen auf die Caries der menschlichen Zähne. Arch. exp. Path.Pharmakol. 16, 291 (1882)
- MUHLEMAN, H.R.: Phosphor und Kariesprophylaxe. Schweiz. med. Wschr. 91, 221 (1961)
- NAUJOKS, R.: Ursachen der Zahnkaries. Praxis der Zahnheilkunde, Bd. 1, Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1968, A 7, S.1 ff
- ORLAND, F.J., BLAYNEY, J.R. HARRISON, R.W., REYNIERS, J.A., TREXLER, P.C., ERVIB, R.F., GORDON, H.A. and WAGNER, M.: Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci. J.Amer.dent. Ass. 50, 259 (1955)
- PICKERILL, H.P.: Verhütung von Zahnkaries und Mundsepsis. H. Heußer, Berlin 1913
- RIETHE, P.: Plaques und Zahnstein in ihren Beziehungen zum marginalen Parodontium. Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 915 (1963)
- ROSEBURY, T. and FOLEY, G.: Studies, in the rat, of susceptibility to dental caries. II. The effect, on mothers and young, of diets deficient in calcium and vitamin D, during pregnancy, lactation, and rearing. J.dent.Res. 12, 462 (1932)
- ROZEIK, F.: Haltung der Osborne-Mendel-Ratte in der Kariesforschung. Zahnärztl. Pract. 12, 234 (1961)
- SCHWARTZ, A. and SHAW, J.H.: Studies on the effect of selective desalivation on the caries incidence of albino rats. J.dent.Res. 34, 239 (1955)
- STEPHAN, R.M. and HARRIS, M.R.: Location of experimental caries on different tooth surfaces in the Norway rat; in :Sognnaes, R.F., Ed.Advances of Experimental Caries research Washington, D.C.Amer.Ass.Adv.Sci. p.47 (1955)

- STRALFORS, A.: Investigation into the bacterial
chemistry of dental plaques.
A.-B. Thule, Stockholm, 1950
- WEIHE, W.: Die Umwelt der Versuchstiere und ihre
Standardisierung im biologischen Test.
Huber-Verlag Bern und Stuttgart 1964
- WILLIAMS, J.L.: A contribution to the study of pathology of
enamel. Dent. Cosmos, 39, 169 (1897)

* * *
*

Herrn Prof.Dr.Dr.Peter Riethe möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie die allzeit gewährte Unterstützung herzlich danken.

Herrn Privatdozent Dr.med.L.Horbach vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation und seinem Mitarbeiter Dr.med.J.Michaelis danke ich für die stets freundliche Hilfe bei der Abfassung des mathematisch-statistischen Teils.

Lebenslauf

Am 16.Mai 1942 wurde ich als Tochter des Nervenarztes Dr. med. Josef Winkler und seiner Frau Margarete, geb. Thomanek im Sudetenland geboren.

1944 erfolgte unsere Vertreibung und Flucht nach Ansbach in Mittelfranken. Dort besuchte ich von 1949-50 die Volksschule. Im Herbst 1950 übersiedelte ich mit meinen Eltern nach Bad Kreuznach, wo ich die Volksschule beendete.

1953-1963 war ich auf dem staatlichen, humanistischen Gymnasium in Bad Kreuznach, an dem ich im Februar 1963 meine Reifeprüfung ablegte.

Anschließend begann ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz mit dem Studium der Zahnheilkunde. Dort bestand ich im Sommersemester 1965 die zahnärztliche Vorprüfung und am 5. Oktober 1969 das Staatsexamen. Die Bestallung als Zahnärztin wurde mir am 10. Oktober 1969 vom Kultusministerium des Landes Rheinland-Pfalz erteilt.

